

薄荷标准汤剂的指纹图谱及成分分析

吴佳妮^{1,2}, 夏书雪³, 李雪梅⁴, 李艳英^{2*}, 仝燕^{1*}

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 2. 北京盈科瑞创新医药股份有限公司, 北京 102200;
3. 盈科瑞(天津)创新医药研究有限公司, 天津 300382;
4. 北京盈科瑞创新药物研究有限公司, 北京 102200)

[摘要] 目的: 建立薄荷标准汤剂的指纹图谱, 并对其主要的共有峰进行成分归属, 对其化学成分进行分析, 并建立迷迭香酸的含量测定方法。方法: 测定 10 批不同产地薄荷饮片水煎液制成的标准汤剂的 HPLC 指纹图谱, 色谱条件为采用 Kromasil 100-5-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.2% 甲酸水溶液梯度洗脱, 柱温 30 ℃, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 330 nm。将 10 批指纹图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012.130723 版), 进行色谱峰匹配, 采用平均数法生成对照图谱, 并对 10 批指纹图谱进行相似度评价。结果: 建立了薄荷饮片标准汤剂的指纹图谱, 标定出 13 个共有峰; 对 10 批不同产地薄荷饮片标准汤剂的指纹图谱进行相似度评价, 相似度均达到 0.90 以上; 同时采用飞行时间质谱法对指纹图谱中的主要化学成分进行归属, 并对其中 9 个共有峰进行了指认, 使用该方法可同时测定迷迭香酸的含量。结论: 该研究方法简单、准确、快速、重复性好、可行性强, 能有效地对薄荷标准汤剂的质量进行快速评价, 同时也为薄荷配方颗粒的质量评价奠定了基础。

[关键词] 薄荷标准汤剂; 指纹图谱; 迷迭香酸; 四级杆飞行时间质谱; 不同产地

[中图分类号] R284.1; R289; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)16-0128-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191612

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190505.0907.002.html>

[网络出版时间] 2019-05-06 15:21

HPLC Fingerprint and Chemical Constituents of Menthae Haplocalycis Herba Standard Decoction

WU Jia-ni^{1,2}, XIA Shu-xue³, LI Xue-mei⁴, LI Yan-ying^{2*}, TONG Yan^{1*}

(1. *Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;*
2. *Beijing Increasepharm Co. Ltd., Beijing 102200, China;*
3. *Increasepharm (Tianjin) Institute Co. Ltd., Tianjin 300382, China;*
4. *Beijing Increase Innovative Drug Co. Ltd., Beijing 102200, China*)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC fingerprint of Menthae Haplocalycis Herba standard decoction, in order to identify the main chemical component of common peaks, and determine the content of rosmarinic acid. **Method:** The chromatographic fingerprints of 10 batches of Menthae Haplocalycis Herba standard decoction from different areas were determined, and the chromatographic separation was carried out on Kromasil C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) at the temperature of 30 ℃. The mobile phase was acetonitrile and 0.1% formic acid solution for gradient elution, with a flow rate of 1 mL·min⁻¹, and the detection wavelength was 330 nm. The

[收稿日期] 20181115(005)

[基金项目] 北京市中医药“十病十药”项目——中药配方颗粒关键技术研究(Z161100001816023)

[第一作者] 吴佳妮, 从事中药分析研究, Tel:010-89720100, E-mail:wujiani@ykrskj.com

[通信作者] *李艳英, 硕士, 高级工程师, 从事中药研究, Tel:010-89720100, E-mail:liyanying@ykrskj.com;

*仝燕, 研究员, 从事中药制剂研究, Tel:010-64087627, E-mail:791489912@qq.com

10 batches of fingerprints were imported into Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of TCM (2012.130723) for chromatographic peak matching, the reference fingerprint was established with the average method, and the similarities of 10 batches were evaluated. **Result:** The HPLC fingerprint of *Menthae Haplocalycis Herba* showed 13 common peaks. The similarities of 10 batches from different areas were all more than 0.90. At the same time, 9 common peaks of the fingerprint were identified by using Q-TOF-MS spectrometry. Rosmarinic acid content was also determined by using the HPLC fingerprint method. **Conclusion:** The method is simple, rapid and accurate, with a good reproducibility, and can be used to rapidly and effectively evaluate the quality of *Menthae Haplocalycis Herba* standard decoction and lay a foundation for the quality control of *Menthae Haplocalycis Herba* formula granules.

[**Key words**] *Menthae Haplocalycis Herba* standard decoction; fingerprint; rosmarinic acid; Q-TOF-MS; different areas

薄荷为唇形科植物薄荷的干燥地上部分。夏、秋二季在茎叶茂盛时或者花开至三轮时,选择晴天,分次采割。其功效为疏散风热、清利头目、利咽、透疹、疏肝行气。味辛,性凉。入肝、肺经。可用于治疗风热感冒,风温初起,头痛,目赤,喉痹,口疮,风疹,麻疹,胸胁胀闷^[1]。薄荷是中华常用中药之一,可药食两用。薄荷化学成分含有挥发油、黄酮类、萜类、有机酸、氨基酸、醌类等。目前,关于薄荷的报道主要集中于药材饮片的化学成分^[2]、药理作用、本草考证及提取方法^[3-4]等,薄荷标准汤剂质量相关的研究尚未有文献报道。

标准汤剂系遵循中医药理论,按照临床汤剂煎煮方法规范化煎煮,固液分离,经适当浓缩制得或经适宜方法干燥制得,作为衡量中药配方颗粒是否与临床汤剂基本一致的标准参照物。中药配方颗粒的所有药学研究均须与标准汤剂进行对比,以保证与标准汤剂质量一致性^[5]。由于 2015 年版《中国药典》^[1]中薄荷药材及饮片的标准只有挥发油的含量测定,其质量控制并不是很全面。因而建立薄荷标准汤剂水溶性指标成分含量测定方法和标准汤剂指纹图谱分析方法是必要的研究。在薄荷标准汤剂指纹图谱中,对主要色谱峰进行定性并对其峰面积进行相对定量控制也是含测指标的补充^[6]。

本实验从薄荷标准汤剂角度对收集的 10 批薄荷饮片进行标准汤剂制备工艺、干膏粉中挥发性及非挥发性成分进行了研究,并建立了水溶性成分含量测定和指纹图谱的分析方法,作为薄荷标准汤剂的质量控制模式,同时为薄荷配方颗粒质量标准的建立及全程控制提供参考。

1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); LGJ-10 型真空冷冻干燥机(北京松源华兴科技发展

有限公司); BS 124S 型 1/1 万, BT25S 型 1/10 万电子天平(德国赛多利斯公司)。1290 II 型超高效液相色谱, 6530 型四级杆-飞行时间串联质谱仪(美国安捷伦公司)。

迷迭香酸、咖啡酸、绿原酸、蒙花苷、橙皮苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 111871-201706, 110885-201703, 110753-201817, 111528-201710, 110721-201617, 纯度分别为 90.5%, 99.7%, 96.8%, 96.6%, 96.1%)。乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。薄荷在我国分布较广布,栽培、野生皆有,以栽培为主,目前大多数地区都有种植,薄荷饮片共 10 批,购于安徽、江苏,来自于薄荷的主产区、道地产区和主要药材市场,经暨南大学药学院传统中药研究中心主任曹晖老师鉴定为唇形科植物薄荷 *Mentha haplocalyx* 的干燥地上部分。采用 10 批薄荷饮片制备对应批次的 10 批标准汤剂。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Kromasil 100-5-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.2% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 5 min, 5% ~ 8% A; 5 ~ 30 min, 8% ~ 17% A; 30 ~ 65 min, 17% ~ 22% A; 65 ~ 100 min, 22% ~ 40% A), 检测波长 330 nm, 流速 1 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL, 分析时间 100 min。

2.2 溶液的制备及测定

2.2.1 标准汤剂的制备 按照《医疗机构中药煎药室管理规范》^[7]进行煎煮,称取薄荷饮片 100 g,加 12 倍水浸泡 30 min,煎煮 20 min,滤过;加 10 倍水煎煮 10 min,滤过,合并 2 次滤液,减压浓缩至饮片投料量-浸膏体积约为 1:2(g:mL)的浸膏,冷冻干燥,即得干膏粉。

2.2.2 供试品溶液的制备 取干膏粉约 0.5 g,精

密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 50 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,用 70% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 对照品溶液的制备 取迷迭香酸对照品适量,精密称定,分别加甲醇制成每 1 mL 含 15 μg 的溶液,即得。

2.2.4 饮片溶液的制备 取本品粉末(过三号筛),约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 50 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,用 70% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3 迷迭香酸含量测定方法学考察

2.3.1 线性关系考察 分别精密吸取质量浓度为 17.05 mg·L⁻¹迷迭香酸对照品溶液 2,5,10,20 μL,质量浓度为 34.1 mg·L⁻¹迷迭香酸对照品溶液 25 μL,按 2.1 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得迷迭香酸回归方程 $Y = 2\ 754\ 844.309\ 9X - 11\ 388.062\ 7 (r = 0.999\ 9)$,线性范围 0.034 1 ~ 0.853 μg。

2.3.2 精密度试验 取样品(180315-1)按 2.2.2 项下方法制成供试品溶液,连续进样 6 次,计算供试品溶液中迷迭香酸峰面积的 RSD < 1.5%,表明仪器精密度良好。

2.3.3 重复性试验 取同一批号样品(180315-1),分别精密称取 6 份,按照 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,分别进样按 2.1 项下色谱条件测定,计算迷迭香酸的平均质量分数为 1.5 mg·g⁻¹,RSD < 2.0%,表明该方法的重复性良好。

2.3.4 稳定性试验 取重复性试验中一份供试品溶液,分别于制备后 0,2,4,8,12,18,24 h 按 2.1 项下色谱条件测定,计算迷迭香酸峰面积的 RSD < 2.0%,表明供试品溶液在制备后 24 h 内稳定。

2.3.5 加样回收试验 取已知指标成分含量的样品(180315-1),按 1:1 的比例添加迷迭香酸对照品,按 2.2.2 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,计算迷迭香酸的平均加样回收率 99.57%,RSD 0.3%,表明该方法的准确度较好,结果见表 1。

2.3.6 样品测定 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL,按 2.1 项下色谱条件测定 10 批薄荷饮片和薄荷标准汤剂中迷迭香酸的含量,结果见表 2。

2.4 指纹图谱方法学考察

2.4.1 精密度试验 取样品(180315-1)按 2.2.2

表 1 薄荷标准汤剂中迷迭香酸的加样回收试验

Table 1 Recovery test of rosmarinic acid in standard decoction of *Mentha haplocalyx*

No.	称样量/g	测得量/mg	样品中量/mg	回收率/%
1	0.250 1	0.753 6	0.375 2	99.55
2	0.251 5	0.756 8	0.377 3	99.84
3	0.250 9	0.755 1	0.376 4	99.63
4	0.251 3	0.756 4	0.377 0	99.82
5	0.254 5	0.758 3	0.381 8	99.05
6	0.251 2	0.755 2	0.376 9	99.53

注:加入量均为 0.380 1 mg。

表 2 10 批薄荷标准汤剂和饮片的理化特征参数

Table 2 Physicochemical parameters of 10 batches *Mentha haplocalyx* standard decoction and decoction pieces

No.	饮片			冻干粉			转移率/%
	批号	产地	迷迭香酸/%	批号	迷迭香酸/%	出膏率/%	
S1	AH-1	安徽	0.049	180315-1	0.155	26.6	84.14
S2	AH-2	安徽	0.049	180315-2	0.165	25.5	85.87
S3	AH-3	安徽	0.382	180315-3	0.847	21.3	47.23
S4	AH-4	安徽	0.042	180315-4	0.157	18.2	68.03
S5	AH-5	安徽	0.235	180315-5	0.631	19.6	52.63
S6	AH-6	安徽	0.205	180316-1	0.732	15.4	54.99
S7	JS-1	江苏	0.021	180316-2	0.105	15.3	76.50
S8	JS-2	江苏	0.042	180316-3	0.161	16.8	64.40
S9	JS-3	江苏	0.025	180316-4	0.140	14.2	79.52
S10	JS-4	江苏	0.026	180316-5	0.155	15.3	62.38

项下方法制成供试品溶液,连续进样 6 次,以 10 号峰为参照峰,计算出 1 ~ 13 号共有指纹峰的相对保留时间和相对峰面积,其 RSD 均 < 2%,同时利用相似度评价软件按 Mark 峰计算各色谱指纹图谱的相似度均 > 0.99,表明仪器稳定,精密度良好。

2.4.2 重复性试验 取同一批号样品(180315-1),分别精密称取 6 份,按照 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,分别进样,以 10 号峰为参照峰,计算出 1 ~ 13 号共有指纹峰的相对保留时间和相对峰面积,其 RSD 均 < 3%,同时利用相似度评价软件按 Mark 峰计算各色谱指纹图谱的相似度均 > 0.99,表明方法重复性良好。

2.4.3 稳定性试验 取重复性试验中同一供试品溶液,分别在 0,2,4,8,12,18,24 h 进样,以 10 号峰为参照峰,计算 1 ~ 13 号共有指纹峰的相对保留时间和相对峰面积,RSD 均 < 2%,同时利用相似度评价软件按 Mark 峰计算各色谱指纹图谱的相似度

均 > 0.99, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

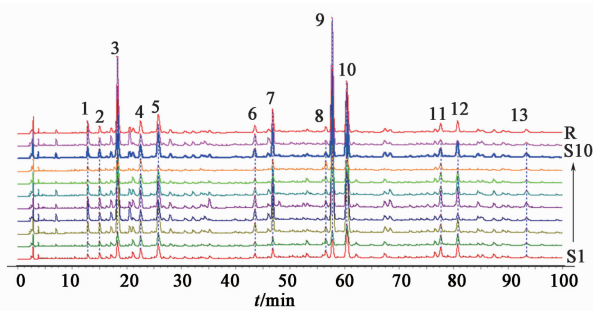
2.5 指纹图谱的建立 分别精密吸取按 2.2.2 项下制备的供试品溶液各 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 得到 10 批薄荷标准汤剂 HPLC 指纹图谱, 将色谱图以 AIA 格式导入国家药典委员会推荐的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版), 进行峰匹配, 采用平均数法生成对照图谱, 其结果及所得对

照指纹图谱。根据不同批次确定薄荷标准汤剂指纹图谱具有 13 个共有峰。10 批薄荷标准汤剂与对照指纹图谱相似度计算结果分别为 0.924, 0.907, 0.999, 0.986, 0.998, 0.997, 0.910, 0.925, 0.999, 0.979。根据匹配的相似度结果, 暂定薄荷标准汤剂的 HPLC 指纹图谱与对照指纹图谱经比较其相似度不得低于 0.90, 结果见表 3 和图 1。

表 3 10 批薄荷标准汤剂 HPLC 指纹图谱相似度

Table 3 Similarities of HPLC fingerprint of 10 batches *Mentha haplocalyx* standard decoction

No.	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	R
S1	1.000	0.995	0.913	0.850	0.928	0.935	0.998	0.921	0.929	0.830	0.924
S2	0.995	1.000	0.895	0.828	0.909	0.914	0.999	0.922	0.909	0.811	0.907
S3	0.913	0.895	1.000	0.988	0.995	0.995	0.899	0.911	0.997	0.982	0.999
S4	0.850	0.828	0.988	1.000	0.979	0.975	0.831	0.880	0.981	0.998	0.986
S5	0.928	0.909	0.995	0.979	1.000	0.998	0.913	0.922	0.999	0.971	0.998
S6	0.935	0.914	0.995	0.975	0.998	1.000	0.920	0.917	0.999	0.964	0.997
S7	0.998	0.999	0.899	0.831	0.913	0.920	1.000	0.924	0.914	0.813	0.910
S8	0.921	0.922	0.911	0.880	0.922	0.917	0.924	1.000	0.916	0.877	0.925
S9	0.929	0.909	0.997	0.981	0.999	0.999	0.914	0.916	1.000	0.972	0.999
S10	0.830	0.811	0.982	0.998	0.971	0.964	0.813	0.877	0.972	1.000	0.979
R	0.924	0.907	0.999	0.986	0.998	0.997	0.910	0.925	0.999	0.979	1.000



R. 对照指纹图谱; S1 ~ S10. 10 批供试品

图 1 10 批薄荷标准汤剂 HPLC 指纹谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of 10 batches *Mentha haplocalyx* standard decoction

2.6 对照品指认 通过查阅文献并使用对照品进行比对, 指认了 13 个峰中的 5 个峰, 分别 3 号峰为绿原酸, 4 号峰为咖啡酸, 8 号峰为橙皮苷, 10 号峰为迷迭香酸, 12 号峰为蒙花苷。其中 10 号峰迷迭香酸分离度较好, 保留时间适中, 故以其作为参照峰计算其余各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 结果见图 2。

2.7 UPLC-Q-TOF-MS 推测薄荷标准汤剂的化学成分

2.7.1 质谱条件 Agilent 1290II 型超高效液相色谱

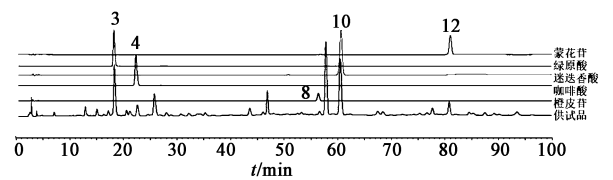


图 2 薄荷标准汤剂与对照品定位

Fig. 2 HPLC chromatography of *Mentha haplocalyx* standard decoction and standard compounds

谱 (UPLC), 连接 6530 型四级杆-飞行时间串联质谱仪 (Q-TOF-MS)。配有 2 个独立二元泵、可控温自动进样器、可控温柱温箱、二极管阵列检测器 (DAD) 和电喷雾离子源 (ESI)。质谱检测分别在正、负离子模式下进行, 干燥气温度 350 °C, 干燥气流速 10 L · min⁻¹, 雾化气压力 0.241 MPa, 鞘气温度 350 °C, 鞘气流速 12 L · min⁻¹ 毛细管电压 4 000 V (正模式) 和 3 500 V (负模式)。一级质谱选用 MS1 模式, 质量扫描范围 *m/z* 100 ~ 1 500。二级质谱选用 Auto-MS/MS 模式, 碰撞电压 10, 20, 40 V。

2.7.2 色谱条件 分离采用 Waters UPLC HSS T3 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm), 配有在线过滤器。柱温 35 °C, 流速 0.4 mL · min⁻¹。流动相 0.2% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 2 min,

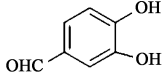
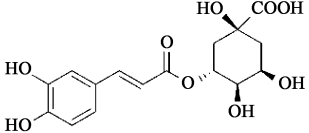
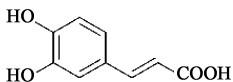
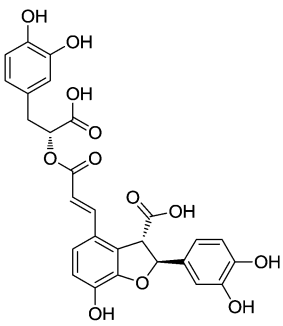
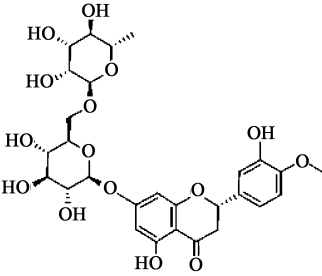
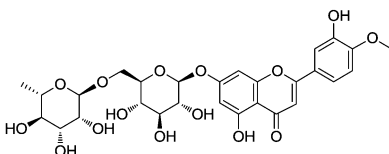
5% ~ 8% B; 2 ~ 8.5 min, 8% ~ 15% B; 8.5 ~ 9.5 min, 15% ~ 16% B; 9.5 ~ 14.5 min, 16% ~ 19% B; 14.5 ~ 16 min, 19% ~ 21% B; 16 ~ 21 min, 21% ~ 24% B; 21 ~ 27 min, 24% ~ 33% B)。检测波长 330 nm, 进样量 2 μ L。

2.7.3 薄荷标准汤剂主要化合物的鉴定 选择优化好的色谱及质谱条件, 对薄荷标准汤剂样品进行

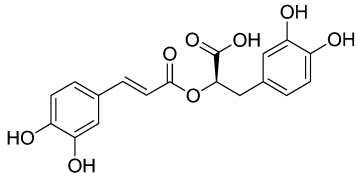
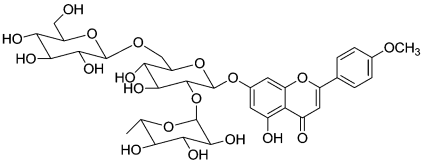
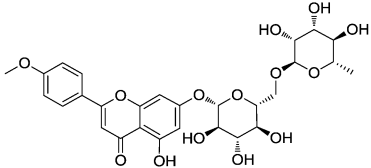
测定并正、负离子模式采集总离子流数据, 应用 MassHunter 软件对质谱图进行分析, 可得到化合物的精确相对分子质量, 再用分子式生成器 (MFG) 计算, 可得到多种元素组成。在数据库中, 结合保留时间、二级裂解碎片信息以及参考文献 [6-13] 进行综合分析, 共鉴定出 9 个成分。9 个成分的准确相对分子质量、质谱数据、推测结果等见表 4。

表 4 薄荷标准汤剂化学成分的 UPLC-DAD-TOF-MS 分析

Table 4 UPLC-DAD-TOF-MS analysis of *Mentha haplocalyx* standard decoction

峰号	化合物	分子式	正离子模式 特征碎片	负离子模式 特征碎片	MS/MS 特征碎片	结构式
2	原儿茶醛 ^[8]	C ₇ H ₆ O ₃	-	[M - H] ⁻ 137.024 0	[M - H - CO] ⁻ 109.031 0	
3	绿原酸 ^[9-10]	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M + H] ⁺ 355.102 8	-	-	
4	咖啡酸 ^[8,11-12]	C ₉ H ₈ O ₄	[M + H] ⁺ 181.050 2	[M - H] ⁻ 179.035 4	[M - H] ⁻ 179.035 6, [M - H - CO ₂] ⁻ 135.045 0	
7	紫草酸 ^[8]	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₂	[M + Na] ⁺ 561.100 8	[M - H] ⁻ 537.103 9	[M + Na] ⁺ 561.101 2, [M + Na - C ₉ H ₈ O ₄] ⁺ 381.059 5, [M + Na - C ₉ H ₈ O ₄ - H ₂ O] ⁺ 363.051 2, [M + Na - C ₉ H ₈ O ₄ - H ₂ O - CO ₂] ⁺ 319.057 9	
8	橙皮苷 ^[8,11-12]	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	[M + Na] ⁺ 633.178 5, [M + H] ⁺ 611.196 6	[M - H] ⁻ 609.182 1	[M + Na] ⁺ 633.176 5	
9	香叶木苷 ^[8-9,11]	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	[M + H] ⁺ 609.181 8	[M - H] ⁻ 607.166 9	[M - H - Rha - Glc] ⁻ 299.057 0	

续表 4

峰号	化合物	分子式	正离子模式 特征碎片	负离子模式 特征碎片	MS/MS 特征碎片	结构式
10	迷迭香酸 ^[8,11]	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	[M + Na] ⁺ 383.073 9	[M - H] ⁻ 359.077 0	[M + Na - C ₉ H ₈ O ₄] ⁺ 203.030 2, [M + Na - C ₉ H ₈ O ₄ - H ₂ O] ⁺ 185.019 2	
11	刺槐素-7-O- [β-D-葡萄糖 基-(1→6)-α- L-鼠李糖基- (1→2)]-β-D- 葡萄糖苷 ^[13]	C ₃₄ H ₄₂ O ₁₉	[M + H] ⁺ 755.240 5	[M + HCOO] ⁻ 799.230 6, [M - H] ⁻ 753.223 5	[M + H - Rha] ⁺ 609.180 3, [M + H - Rha - Glc] ⁺ 447.126 5, [M + H - Rha - 2Glc] ⁺ 285.076 1	
12	蒙花苷 ^[8,11-12]	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₄	[M + H] ⁺ 593.186 7	[M + HCOO] ⁻ 637.177 8, [M - H] ⁻ 591.172 0	[M + H - Rha - Glc] ⁺ 285.077 8	

3 讨论

本实验研究了薄荷标准汤剂,依据 2015 年版《中国药典》薄荷属于后下品种且含有挥发油,故首先考察了薄荷水煎液中的挥发油。为了提取挥发油,在薄荷标准汤剂制备过程中适当缩短薄荷饮片水煎煮时间,并将水煎液中的挥发油进行回收,10 批薄荷标准汤剂挥发油的含量较低,均小于万分之一。考虑薄荷药材挥发油含量会随着产地、采收期、贮藏时间的变化而变化,导致标准汤剂所含挥发油含量波动较大,同时水煎剂中水溶性成分为其主要物质基础,故本研究着重对标准汤剂的水溶性成分进行研究。按照《医疗机构中药煎药室管理规范》^[7] 制备薄荷标准汤剂,并进行质量标准研究。建立了迷迭香酸的含测方法和水溶性成分指纹图谱分析方法。

利用四级杆-飞行时间质谱技术采集薄荷标准汤剂指纹图谱中主要共有峰的一级、二级质谱数据,通过参考相关文献、结合数据库匹配和二级碎片信息,对薄荷标准汤剂的化学成分进行了推测,共鉴定 9 个主要化学成分,分别为峰 2 原儿茶醛、峰 3 绿原酸、峰 4 咖啡酸、峰 7 紫草酸、峰 8 橙皮苷、峰 9 香叶木苷、峰 10 迷迭香酸、峰 11 刺槐素-7-O-[β-D-葡萄糖基-(1→6)-α-L-鼠李糖基-(1→2)]-β-D-葡萄糖苷、峰 12 蒙花苷。通过绿原酸、咖啡酸、橙皮苷、迷迭香酸、蒙花苷 5 个对照品溶液的定位,进一步确证

了对应峰的化学结构。直观分析指纹图谱,峰 3,峰 7,峰 9 和峰 10 含量相对较大,故 4 个峰作为含量测定的筛选指标。其中峰 7 紫草酸和峰 9 香叶木苷不易采购,峰 3 绿原酸和峰 9 迷迭香酸较易采购,但绿原酸的专属性较差,故选择迷迭香酸作为薄荷标准汤剂的含量测定指标。

实验中考察了乙腈-不同浓度甲酸、乙腈-水两种流动相体系,发现以乙腈-水为流动相,样品的分离效果较差;以乙腈-0.2% 甲酸为流动相图谱效果最佳。进行全波长扫描,并对 280,330,350 nm 不同波长进行考察,发现在 330 nm 下图谱的色谱峰信息较为全面,故选 330 nm 作为检测波长。实验中发现迷迭香酸分离度良好,故采用指纹图谱的分析方法同时测定迷迭香酸的含量;进而对供试品的制备进行了甲醇、70% 甲醇、稀乙醇不同溶媒的考察,发现 70% 甲醇提取的峰个数较多,且迷迭香酸响应较高,确定采用 70% 甲醇作为提取溶媒。本研究建立了同时测定薄荷标准汤剂指纹图谱和含量测定的方法。从而节约检测时间和成本,并可在薄荷配方颗粒分析和质量控制中得到应用。

通过迷迭香酸含量测定研究,薄荷饮片的质量分数在 0.021% ~ 0.382%,标准汤剂的质量分数在 0.105% ~ 0.847%,范围相对较宽。分析原因可能为采收期和产地不同导致的范围较宽。为了保证其质量的均一,建议固定产地和采收期。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 377, 420.
- [2] 许一鸣, 乐巍, 桑梦如, 等. 不同产地薄荷药材商品质量及差异研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(17): 3391-3397.
- [3] 钟昆芮, 张凡, 姜艳艳, 等. 薄荷总黄酮的纯化工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(6): 11-14.
- [4] 束雅春, 段煜, 陈亚军, 等. 薄荷-荆芥药对与单味药挥发性成分分析及体外抑菌作用比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(7): 6-13.
- [5] 国家药典委员会. 关于征求《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》意见的通知[EB/OL]. <http://www.chp.org.cn/view/ff808081559d1ea301565ac24962560d?a=XWJX>.
- [6] 刘安. 中药饮片标准汤剂制备与质量标准研究方法概述[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 1.
- [7] 中华人民共和国国家中医药管理局. 卫生部国家中医药管理局关于印发医疗机构中药煎药室管理规范的通知[EB/OL]. <http://yzs.satcm.gov.cn/gongzuodongtai/2018-03-25/6577.html>.
- [8] 陈向阳. 薄荷酚类部位化学成分及抗炎活性研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [9] 朱邵晴, 朱振华, 郭盛, 等. 不同干燥方法对薄荷药材中多元功效成分的影响与评价[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(24): 4860-4867.
- [10] 施树云, 郭柯柯, 彭胜, 等. DPPH-HPLC-QTOF-MS/MS快速筛选和鉴定杜仲黑茶中抗氧化活性成分[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(11): 1913-1917.
- [11] 徐晶晶. 基于抗氧化谱效关系分析的薄荷药材质量控制和评价方法研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [12] 张昱, 马惠玲, 麦曦, 等. 基于UHPLC-Q-TOF-MS/MS技术鉴定薄荷在大鼠体内的入血成分及代谢产物[J]. 中草药, 2017, 48(19): 3927-3934.
- [13] 马双刚, 袁绍鹏, 侯琦, 等. 山香圆叶中黄酮苷类成分及其抗炎活性研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(11): 1747-1750.

[责任编辑 顾雪竹]